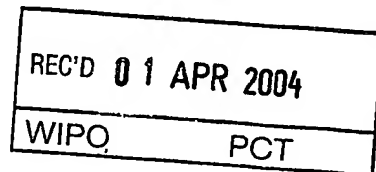


Rec'd PCT 18 FEB 2005

URAD REPUBLIKE SLOVENIJE ZA INTELEKTUALNO LASTNINO
10/525182

Potrdilo Certificate



Urad Republike Slovenije za intelektualno lastnino potrjuje, da je priloženi dokument istoveten z izvirnikom patentne prijave, kot sledi:

Slovenian Intellectual Property Office hereby certifies that the document annexed hereto is a true copy of the patent application, as follows:

(22) Datum prijave (*Application Date*):

12.6.2003 (12.jun.2003)

(21) Številka prijave (*Application No.*):

P-200300145

(54) Naziv (*Title*):

Proces priprave tetrazolskih derivatov v novi kristalni obliki

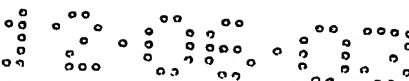
Ljubljana, 2.2.2004

Janez Milač
svetovalec direktorja



PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY



ZAHTEVA ZA PODELITEV PATENTA

1. Naslov za obveščanje:

Lek farmacevtska družba, d.d.

Sektor intelektualna lastnina

Verovškova 57, SI – 1526 Ljubljana, Slovenija

tel.: 580 20 05

faks: 568 21 23

šifra: pš/ 543

Potrdilo o prejemu prijave (Izpolni urad)

Datum vložilve prijave: 12.6.2003

Številka prijave: P-2003 00145

Žig urada in podpis:



[Handwritten signature]

2. Prijavitelj (priimek, ime in naslov, za pravne osebe firma in sedež):

Lek farmacevtska družba, d.d.

Verovškova 57

SI - 1526 Ljubljana

Slovenija

3. Zastopnik:

Registrska številka:

4. Izumitelj (priimek, ime in naslov):

Ljubo Antončič, Podmiljščakova 43 SI-1000 Ljubljana

5. Naziv izuma:

Proces priprave tetrazolskih derivatov v novi kristalni obliki

6. Podatki o zahtevani prednostni pravici in podlagi zanjo:

7. Dodatne zahteve:

- ☐ prijava je za patent s skrajšanim trajanjem
- ☐ predhodna objava patenta po preteku ____ mesecev
- ☐ prijava je izločena iz prijave številka:

8. Izjava:

- ☐ izjava o skupnem predstavniku:

9. Priloge:

- ☒ opis izuma, ki ima 17 strani
- ☒ patentni zahtevek (zahtevki), ki ima(jo) 2 strani; število zahtevkov: 18
- ☒ skice (če so zaradi opisa izuma potrebne); število listov: 8
- ☒ povzetek
- ☐ potrdilo o plačilu prijavnih pristojbin
- ☐ potrdilo o deponiranju biološkega materiala, če gre za izum, ki ga ni mogoče opisati
- ☐ pooblastilo zastopniku
- ☐ generalno pooblastilo zastopniku je deponirano pri uradu pod št.:
- ☐ potrdilo o razstavi prednostni pravici
- ☐ podatki o drugih prijaviteljih
- ☒ podatki o drugih izumiteljih
- ☐ prikaz zaporedja nukleotidov ali aminokislin v opisu
- ☐ prijava je bila predhodno posredovana po faksu ali v elektronski obliki
- ☐ _____

| | |
|---|--|
| | |
| REPUBLIKA SLOVENIJA MINISTRSTVO ZA GOSPODARSTVO URAD RS ZA INTELEKTUALNO LASTNINO | |
| Prejeto dne: 12-06-2003 | Osebnostni oddelek: <input type="checkbox"/> |
| Podpis: <i>[Handwritten signature]</i> | Oddano priporočeno dne: _____ |
| Šifra: <i>[Handwritten]</i> | Poštna številka: 10685 |
| A. Kožak | |

Priimek in ime ter podpis prijavitelja (zastopnik)

Urad RS za intelektualno lastnino
Kotnikova 6, 1000 Ljubljana

Verovškova 57
1526 Ljubljana

Telefon: 01/580 21 11
Telefaks: 01/568 35 17

**Sektor intelektualna
lastnina**

Telefon: 01/534 89 63
01/580 20 05
Telefaks: 01/568 21 23

11-6-2003

Naš znak: PS-543

Vaš znak:

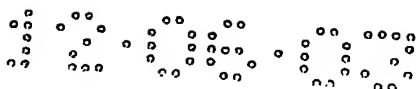
Priloga k zahtevi za podelitev patenta

Podatki o drugih izumiteljih patenta:
Proces priprave tetrazolskih derivatov v novi kristalni obliki

Anton Čopar, Staretov trg 1, SI 1275 Šmartno pri Litiji

Peter Svete, Gradišnikova 14, SI 1353 Borovnica

Breda Husu, Na Peči 27, SI 1000 Ljubljana



1

Proces priprave tetrazolskih derivatov v novi kristalni obliki

Področje tehnike, v katero spada izum

(IPC⁷ C 07 D 403/10, A 61 K 9/19)

Pričujoči izum spada v področje kemije heterocikličnih spojin in farmacevtske industrije ter se nanaša na novo kristalno obliko farmacevtsko uporabne kristalinične soli 2-*n*-butil-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazola z vezano vodo ter nov način njene priprave.

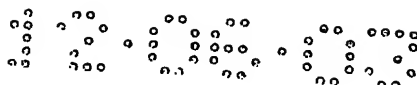
Tehnični problem

2-*n*-butil-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazol z generičnim imenom losartan deluje na zadnjo stopnjo kaskadnega sistema renin-angiotenzin in sicer tako, da se veže na receptor za angiotenzin II. Izkoriščajoč ta biokemijski učinek se v splošnem uporablja kot učinkovito antihipertenzivno sredstvo v obliki kalijeve soli (od tu naprej losartan kalij). V farmacevtskih pripravkih je pogosto kombiniran z diuretiki.

Obstaja potreba po losartanu oziroma njegovi soli visoke čistoče v takšni obliki, da se jo enostavno vgradi v farmacevtsko formulacijo, ki zagotovi visoko biološko razpoložljivost. Za vgradnjo v farmacevtsko obliko morajo imeti učinkovine določene želene fizikalno-kemijske lastnosti, poleg visoke čistosti zahtevamo primerno stabilnost, nehigroskopskost, ustrezno topnost in kompatibilnost z pomožnimi snovmi.

Stanje tehnike

Substituirani imidazoli z delovanjem na renin-angiotenzinski sistem regulacije krvnega pritiska, med katere spada tudi losartan, so bili razkriti v patentih EP 253310 in US 5138069. Eksperimentalni del navaja, da pri sintezi losartana iz



2

cianobifenilnega intermediata (to je iz 2-*n*-butil-4-kloro-1-[(2'-cianobifenil-4-il)-metil]-5-(hidroksimetil)imidazola) z natrijevim azidom izpade losartan v obliki rahlo rumenih kristalov.

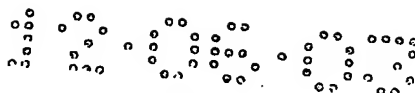
Znano je, da obstaja losartan kalij v dveh polimorfnih oblikah [K. Raghavan et al., Pharm. Res., 1993, 103 900-904; L. S. Wu et al., Pharm. Res., 1993, 10, 1793-1795]. Avtorji patenta US 5608075 navajajo, da polimorfna oblika I, ki je karakterizirana z DSC endotermo pri 229.5 °C pri segrevanju prehaja v polimorfno obliko II, ki je karakterizirana z endotermnim maksimumom taljenja pri 273.2°. Oblika I je stabilna na sobni temperaturi, medtem ko je oblika II stabilna pri višjih temperaturah. Zardai tega se oblika II pri normalnih pogojih rokovanja postopoma pretvarja v termodinamsko stabilnejšo obliko I.

Ravno tako so iz US 6350880 in EP 1106611 znane kristalne in kristalinične oblike kislinskih adicijskih soli losartana.

EP 324377 podaja postopek za tvorbo kalijeve soli losartana z vodno raztopino kalijevega hidroksida, podoben postopek priprave kristaliničnega losartan kalija v polimorfni obliki I podaja patentna prijava WO 02094816, kjer pa za razliko od navedenega postopka ne uporabijo vodne raztopine kalijevega hidroksida ampak dodajo trden kalijev hidroksid alkoholni raztopini losartana.

Po postopku sinteze opisanem v patentih US 5130439 in US 5310928 preko substituiranih borovih soli nastane s hidrolizo 2-*n*-butil-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[2'-(2-trifenilmetil-2H-tetrazol-5-il)][1,1'-bifenil-4-il]metil]-1H-imidazola z žvepleno kislino v tetrahidrofuranu in kasnejšim spiranjem na koloni z dikalijevim hidrogenfosfatom ter s koncentriranjem sprane vodne raztopine ob dodatku *i*-propanola kristaliničen losartan kalij v obliki I.

Zgolj določena oblika polimorfa ne zagotavlja nujno primernih fizikalno-kemijskih lastnosti. V US 5859258 so kristalizirali losartan polimorfne oblike I iz zmesi *i*-propanola in 2.4 – 2.6% vode. Ugotovili so, da lahko nekontrolirana kristalizacija privede do tvorbe velikih trodimenzionalnih skupkov, ki so neprimerni za vgradnjo



3

v farmacevtsko obliko, v smislu izuma pa navajajo zelo strogo kontroliran proces, v katerem je treba izpolniti kar 14 različnih pogojev, da zagotovijo primerno obliko delcev za farmacevtsko uporabo.

Za spojino 2-*n*-butil-4-spirociklopentan-1--[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazolin-5-on, ki je strukturno sorodna 2-*n*-butil-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazolu so v US 5629331 ugotovili, da iz brezvodnih topil kristalizira v eni, iz topil z več kot 10% vode pa v drugi polimorfni obliki, izračun osnovne celice narejen iz monokristala druge oblike pa kaže, da kljub veliki količini vode v kristalizacijskem topilu, polimorfna oblika ni v obliki hidrata oziroma ne vključuje kristalno vezane vode.

Opis slik

Slika 1: fotografija kristala polimorfne oblike III kalijeve soli losartana posneta v presevni polarizirani svetlobi.

Slika 2: termogram polimorfne oblike III kalijeve soli losartana.

Slika 3: DVS diagram polimorfne oblike III kalijeve soli losartana.

Slika 4: DSC krivulja polimorfne oblike III kalijeve soli losartana.

Slika 5: DSC krivulja amorfne kalijeve soli losartana

Slika 6: rentgenski praškovni difraktogram polimorfne oblike III kalijeve soli losartana.

Slika 7: rentgenski praškovni difraktogram amorfne kalijeve soli losartana.

Slika 8: rentgenski praškovni difraktogrami kalijeve soli losartana narejeni s snemanjem vzorca polimorfne oblike III kalijeve soli losartana pri različnih temperaturah.

Opis rešitve tehničnega problema z izvedbenimi primeri

Predmet našega izuma je popolnoma nova kristalna oblika losartan kalija z vezano vodo ter postopek priprave nove kristalne oblike, katere bistven element je prisotnost vode.

Pri našem raziskovalnem delu smo ugotovili, da z liofilizacijo vodne raztopine alkalijske ali zemljoalkalijske soli losartana ali z odparevanjem dobimo učinkovino v obliki finega amorfnega prahu.

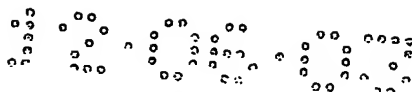
Iz amorfne strukture v vlažni atmosferi nastane nova kristalna oblika, ki vsebuje vezano vodo kajti ugotovili smo, da je amorfna substanca higroskopska in nase veže vodo pri čemer se sistem preuredi v kristalno strukturo, kar se na primer zgodi pri sobni temperaturi pri okoli 80% relativni vlagi.

Pri nadaljnjem študiju nove kristalne strukture smo presenetljivo ugotovili, da je losartan kalij v tej obliki v vodi manj topen kot losartan kalij znane brezvodne oblike I ali amorfne oblike, zato izpade iz raztopine, ki jo pripravimo iz losartan kalija in majhne količine vode v 0.4 do 1.2 kratniku teže losartana. Iz tako izpadle mase pridobimo losartan kalij nove oblike s sušenjem in mletjem.

Tehnološko je ugodneje, če trdno snov izoliramo s filtriranjem ali centrifugiranjem, kot pa z drobljenjem strjene mase, zato gosti vodni suspenziji dodamo v vodi nemešajoče se topilo, pri čemer se gošča razpusti v suspenzijo, ki se brez težav filtrira ali centrifugira.

Pod določenimi pogoji se losartan kalij preuredi v kristalno strukturo z vezano vodo tudi pri mešanju v zmesi napolarnih hidrofobnih topil in vode oziroma če suspenziji losartana v takem topilu dodamo manjšo količino vode ali pa če nasičeni vodni raztopni losartana dodamo topilo, ki se ne meša ali se slabo meša z vodo.

V primeru, da je vode v zmesi topil sorazmerno veliko se losartan v njej raztopi, če pa je vode premalo je pretvorba nepopolna ali prepočasna. Presenetljivo smo



5

ugotovili, da kristalno strukturo z vezano vodo lahko optimalno izoliramo že v primeru ko molarni delež vode ustreza samo okoli 20 % prebitku trikratnega molarne deleža (utežnega deleža 0.14) losartana.

Topila kombinirana z ustrežno molarno količino vode iz katerih je mogoče izolirati novo kristalno obliko losartan kalija, ki vsebuje vezano vodo, na primer vključujejo v vodi nemešajoče se etre (dietileter, diisopropileter, t-butilmetileter), ogljikovodike (pentan, heksan, heptan), ciklične ogljikovodike (cikloheksan, metilcikloheksan), aromatske ogljikovodike (benzen, toluene, ksilen), estre (etil acetat, izopropil acetat, n-butil acetat), ter njihove kombinacije.

Novo kristalno strukturo lahko dobimo tudi iz znane oblike II, vendar je pretvorba zaradi manjše topnosti v vodi lahko počasnejša ali nepopolna.

Uspešno se je izkazala pretvorba v topilih, ki vsebujejo od 0.11 do 1.2 kratni utežni prebitek vode glede na težo losartana.

Kot najprimernejši za pripravo nove kristalne oblike losartan kalija z vezano vodo se je izkazal naslednji postopek: kalijevo sol losartana suspendiramo v dietiletru. Med intenzivnim mešanjem dodamo k suspenziji pri sobni temperaturi vodo. Molski prebitek vode glede na losartan znaša od okoli 3 do okoli 30 prednostno od okoli 3 do okoli 12. Mešamo preko noči in odfiltriramo nastalo oborino ter jo sušimo.

Če uporabimo topila ali zmesi topil v katerih je voda slabo topna pa mora biti molski prebitek vode proti losartanu bližji 3.

Kristalno obliko kalijeve soli losartana z vezano vodo karakterizirano z najmočnejšimi ukloni v rentgenskem praškovem diagramu pri 2θ okoli 13.0, 17.2, 19.7, 20.9, 21.0, 23.2, 23.6, 24.5, 25.0, 26.6, 17.3, 28.2, 29.0, 31.5 smo poimenovali polimorfna oblika III.

Značilno za polimorfno obliko III je, da vsebuje vezano med okoli 7 % in okoli 13 % vode. Pri termogravimetrični analizi vzorca oblike III se dogaja naslednje: voda izhaja v dveh korakih, v prvem koraku do okoli 55 °C vzorec izgubi 4 % mase, v drugem pa okoli 8 %, skupaj okoli 12 %.

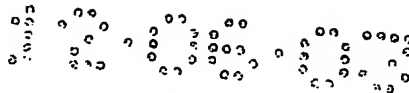
Predmet predloženega izuma so tudi farmacevtski pripravki, ki vsebujejo alkalijsko ali zemljoalkalijsko sol losartana v kristalni obliki z vezano vodo. Prednostno so predmet predloženega izuma farmacevtski pripravki, ki vsebujejo polimorfno obliko III losartan kalija. Primerna dnevna doza vsebuje 1 do 500 mg polimorfne oblike III losartan kalija ter lahko vsebuje druge primerne učinkovine na primer diuretik.

Farmacevtski pripravek je lahko v obliki primerni za peroralno oziroma parenteralno uporabo in je indiciran na primer za zdravljenje hipertenzije, farmacevtski pripravek, ki je predmet tega izuma je lahko tako na primer v obliki tablet, kapsul, pelet, granul in supozitorijev. Trdne farmacevtske oblike so lahko obložene, na primer z namenom povečanja peletibilnosti ali uravnavanja razpadnosti oziroma absorpcije.

V skladu s predmetom našega izuma smo pripravili filmsko obložene tablete po postopku direktne suhe zmesi. Tako smo v enem od primerov pripravili tablete iz naslednjih sestavin: losartan kalij, brezvodna laktoza, perlitol, ac-disol in PVP K 251, magnezijev stearat, aerosil in kompritol. Na jedra se opcionalno lahko nanese filmska obloga pripravljena kot suspenzija vsebujoča naslednje bistvene sestavine: hidroksipropilmetilcelulozo, hidroksipropilcelulozo, polietilenglikol in titanov dioksid, ter filmsko obložene tablete polirali s smukcem. Farmacevtske pripravke, ki vsebujejo polimorfno obliko III se da pripraviti tudi z drugimi primernimi postopki, na primer po postopku suhe granulacije.

Eksperimentalni del

Kristalne oblike losartana, pripravljene z pretvorbo amorfne substance v vlažni atmosferi oziroma pripravljeno iz amorfne substance ali iz substance v eni od znanih polimorfnih oblik s kristalizacijo iz zmesi vode in topila, ki se ne meša ali



slabo meša z vodo, smo primerjali med seboj, ugotovili, da gre v vseh primerih za novo polimorfno obliko III ter jo opisali in določili z naslednjimi fizikalno-kemijskimi metodami:

- diferencialna termična kalorimetrija (DSC)
- rentgenska praškovna difrakcija (XRD)
- dinamična sorpcija pare (DVS)
- termogravimetrična analiza (TG).

1. Termogravimetrija (TG):

Meritev je potekala na termoanalizatorju Mettler Toledo TGA/SDTA 851e v 150 mL platinskih lončkih premera 7 mm v dinamični atmosferi zraka s pretokom 100 mL/min. Hitrost gretja 5 °C na minuto od 25 °C do 240 °C. Meritvi je odšteta bazna krivulja ter je bila ustavljena pri 240 °C.

Slika 2 predstavlja izgubo mase pri gretju vzorca 10.17 mg polimorfne oblike III losartan kalija.

2. Dinamična sorpcija pare (Dynamic Vapour Sorption - DVS):

Poskus smo opravili na instrumentu DVS – The Sorption Solution, Surface Measurement Systems Ltd, UK.

Pri imenovani metodi gre za naslednji princip: merjeni vzorec postavimo na eno stran zelo precizne tehtnice, na drugo stran pa referenčni nehigroskopni vzorec. Tehnica z vzorci je v izolirani komori, v kateri lahko kontroliramo oz. nastavljamo relativno vlažnost okolja. Higroskopni vzorec veže vlago iz okoliške atmosfere, zaradi česar se mu spreminja teža, to spremembo zaznamo na tehtnici.

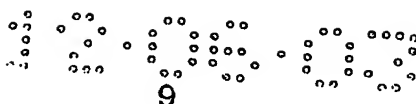
Relativna vlažnost to je relativna vlaga pomeni delež vlage v atmosferi, oz. kvocient med parcialnim tlakom vode v atmosferi in parnim tlakom vode pri dani temperaturi. Parni tlak vode je maksimalni parcialni tlak, ki ga lahko voda doseže pri dani temperaturi – pri tem tlaku je relativna vlažnost 100 %. Parni tlak vode je odvisen od temperature: pri 25 °C je 3.07 kPa, pri 100 °C je 101.32 kPa. Višja kot

je relativna vlažnost okoliške atmosfere, več vode lahko absorbira higroskopna snov. Pri tem se vzpostavi ravnotežje med vezano vodo v substanci in plinasto vodo v atmosferi. Če relativno vlažnost atmosfere zvišamo, higroskopna substanca dodatno absorbira vodo in vzpostavi se spet novo ravnotežje. Na instrumentu DVS vidimo ta ravnotežja v obliki odvisnosti mase vzorca od relativne vlažnosti atmosfere. Voda se v vzorcu lahko veže v obliki proste vlage ali pa se veže na točno določena mesta v kristalni rešetki in jo imenujemo kristalno vezana voda. Kristalna voda je ponavadi v molekuli v stehiometrijskem razmerju. Vezana je trdneje kot prosta absorbirana vlaga in ponavadi izstopa hkratno v stehiometrijski množini.

Vlaženje:

Po podobnem principu, kot je opisano vzpostavljanje ravnotežja med vlago v vzorcu in atmosfersko vlago, lahko z različnimi solmi in njihovimi koncentracijami v raztopini vzpostavimo različno ravnotežno relativno vlago v zračno zaprtem prostoru (eksikatorju). Tako smo v našem eksperimentu vlaženja amorfnega losartan kalija uporabili atmosfero zraka z 80 % relativno vlažnostjo – torej je bil pri 25 °C tlak te vode 2.46 kPa.

DVS poskus je ponazorjen na Sliki 3. Ordinatna os predstavlja spremembo mase, abscisna os pa vlažnost. Krivulja (\diamond) predstavlja povečevanje mase amorfnega losartana kalija, ki pomeni absorpcijo vode do 25 % pri 80 % RH, nato izkristalizira polimorfna oblika III, kar je razvidno kot padec mase nad to relativno vlažnostjo okolja (vsebnost vode v vzorcu je približno 13 %); (\square) predstavlja spreminjanje mase nastale polimorfne oblike III ob zmanjševanju relativne vlažnosti, ob tem pri relativni vlažnosti pod 20 % vzorec odda kristalno vezano vodo in ponovno postane amorfen; (\triangle) predstavlja ponovno sorpcijo vode do približno 13 % pri 60 % RH, ob tem amorfní vzorec kristalizira v polimorfno obliko III; (\circ) predstavlja spreminjanje mase polimorfne oblike III ob zmanjševanju relativne vlažnosti, pri relativni vlažnosti pod 20 % vzorec zopet odda kristalno vezano vodo in ponovno postane amorfen.



Iz rezultatov je razvidno, da je kristalizacija iz amorfne substance v polimorfno obliko III ob zviševanju vlage ponovljiva, prav tako je ponovljiv nastanek amorfne oblike iz polimorfne oblike III ob zmanjševanju relativne vlažnosti okolja

3. Diferencialna termična analiza (DSC)

Uporabili smo diferenčni dinamični kalorimeter Perkin Elmer Pyris 1 DSC.

Meritev smo izvedli po naslednjem protokolu: zatehta vzorca: 1.2 mg, segrevanje: 1 min na 30 °C, nato segrevanje 30 do 320 °C s hitrostjo 10 K/min

DSC termogram polimorfne oblike III kalijeve soli losartana.

Do 75 °C je opaziti razvlečen vrh, ki pomeni izhajanje prve vode, okoli 90 °C pa oster endotermen vrh, ki je verjetno hkratno izhajanje drugih dveh vod ter porušitev urejene strukture v amorfno (amorfna oblika substance ima višjo stopnjo neurejenosti in s tem višjo entropijo kot kristalna oblika, zato je prehod kristalne v amorfno obliko endotermen proces). Pri 190 – 200 °C amorfna substanca ponovno kristalizira.

DSC termogram amorfne kalijeve soli losartana.

Do 110 °C je opaziti razvlečen endotermen vrh, ki pomeni izhajanje vode. Pri 128 – 129 °C je prevoj, ki pomeni steklasti prehod amorfne substance. Pri 201 – 220 °C je izrazit eksotermen vrh, ki je posledica urejanja strukture v kristalno rešetko. Kristali substance se pričnejo taliti pri 273 °C, taljenju sledi razpad, kar je enako kot pri kristalinični substanci.

DSC termograma sta prikazana na Slikah 4 in 5.

4. Rentgenska praškovna analiza (XRD)

Vzorci so bili posneti na aparaturi Philips PW1710 z refleksijsko tehniko pri pogojih: CuK α radiacija, območje od 2° do 37° 2 θ , korak 0.04y 2 θ , integracijski čas 1 sekunda).

Rentgenski praškovni difraktogrami vzorcev polimorfne oblike III losartan kalija kažejo, ne glede na način priprave izrazite trakove pri kotih pri 2θ okoli 13.0, 17.2, 19.7, 20.9, 21.0, 23.2, 23.6, 24.5, 25.0, 26.6, 17.3, 28.2, 29.0, 31.5, ki so različni od tistih, ki so iz stanja tehnike značilni za polimorfno obliko I. Tipičen difraktogram je prikazan na priloženi Sliki 6. Za primerjavo pa je tipični difraktogram amorfne kalijeve soli losartana prikazan na Sliki 7.

5. Odvisnost XRD od temperature:

Na aparaturi Siemens D5000 z refleksijsko tehniko na nizko temperaturnem nastavku pri pogojih: CuK radiacija, območje od 2° do 37° 2θ korak 0.04° 2θ , integracijski čas 4 sekunde, divergenca reža V6, sprejemna reža 0.6 mm smo posneli vzorec polimorfne oblike III losartan kalija.

Vzorec smo posneli pri različnih temperaturah. Na posamezno temperaturo smo segrevali s hitrostjo $10^\circ\text{C}/\text{min}$. Meritev pri eni temperaturi je trajala 59 minut. Skupni čas meritve pa je bil 7 ur in 22 minut. Ta čas upošteva tudi čas segrevanja. Rentgenski praškovni difraktogrami posneti pri različnih temperaturah so prikazani na Sliki 8.

V naslednjih izvedbenih primerih, ki pojasnjujejo, vendar v ničemer ne omejujejo našega izuma, podajamo nam znane najboljše načine priprave novih farmacevtsko uporabnih oblik losartana z novimi metodami čiščenja in izolacije v skladu s predloženim izumom.

Poskus 1

(priprava amorfne kalijeve soli losartana)

29.3 g čiščenega losartana suspendiramo v 293 ml vode. Pri sobni temperaturi naravnomo pH na 9.3 z 10% vodno raztopino kalijevega hidroksida. Reakcijska zmes se zbistri. Raztopino filtriramo in liofiliziramo. Dobimo bel, popolnoma amorfen produkt losartan kalij v količini 31.8 g.

Poskus 2

(priprava amorfne kalijeve soli losartana z odparevanjem)

1.0 g kalijeve soli losartana oblike I topimo v 20 ml metanola ali etanola. Bistro raztopino filtriramo in vakuumsko uparimo do suhega preostanka pri 50 °C. Dobitek 1.12 g.

Poskus 3

(priprava amorfne kalijeve soli losartana z odparevanjem)

1g kalijeve soli losartana oblike I topimo v 100 ml i-propanola ali 30 ml n-propanola. Bistro raztopino filtriramo in vakuumsko uparimo do suhega preostanka pri 50 C. Dobitek 1.1 g.

Poskus 4

(Tvorba polimorfne oblike III losartan kalija iz losartan kalija oblike I v vlažnem dietiletru)

10.0 g kalijeve soli losartana (oblika I) suspendiramo v 500 ml dietiletra. Med intenzivnim mešanjem dodamo k suspenziji pri sobni temperaturi 5 ml vode. Pri čemer se voda delno raztaplja v etru. Mešamo preko noči in odfiltriramo nastalo oborino. Sušimo v vakuumu pri 45 °C dve uri. Dobitek 9.5 g.

Poskus 5

(Tvorba oblike III losartan kalija iz losartan kalija oblike I v vlažnem etilacetatu)

10.0 g kalijeve soli losartana (oblika I) suspendiramo v 500 ml etilacetata. Med intenzivnim mešanjem dodamo k suspenziji pri sobni temperaturi 5 ml vode. Mešamo preko noči in odfiltriramo nastalo oborino. Sušimo v vakuumu pri 45 °C 3 ure. Dobitek 9.3 g.

Poskus 6

(Tvorba polimorfne oblike III s sledovi oblike I kalijeve soli losartana)

10 g kalijeve soli losartana (oblika I) suspendiramo v 500 ml diisopropiletra. Med intenzivnim mešanjem dodamo k suspenziji pri sobni temperaturi 1.2 ml vode. Mešamo preko noči in odfiltriramo nastalo oborino. Sušimo v vakuumu pri 45 °C 3 ure. Dobitek 9.6 g.

Poskus 7

(Pretvorba losartan kalija oblike I v vlažnem heptanu)

10 g kalijeve soli losartana (oblika I) suspendiramo v 100 ml n-heptana. Med intenzivnim mešanjem dodamo k suspenziji pri sobni temperaturi 1.2 ml vode. Mešamo preko noči in odfiltriramo nastalo oborino. Sušimo v vakuumu pri 45° 3 ure. Dobitek 10 g. Nastane v glavnem polimorfna oblika III. Produkt lahko vsebuje sledove drugih polimorfnih oblik.

Poskus 8

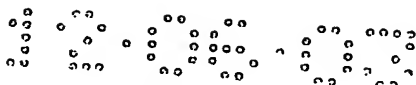
(Tvorba oblike III losartan kalija iz losartan kalija oblike I v vodi)

5.0 g kalijeve soli losartana (oblika I) topimo v 2.5 ml vode v 10 ml reakcijski buči pri sobni temperaturi. Ko po približno 5 minutah produkt kristalizira. Bučko z vsebino sušimo v vakuumu pri 50 °C 6 ur, vsebino prenesemo v tarilnico, jo zmeljemo in ponovno sušimo v vakuumu 3 ure. Dobimo 4.3 g produkta.

Poskus 9

(Tvorba oblike III losartan kalija v vodi in z digeriranjem v dietil etru)

1.0 g kalijeve soli losartana topimo v 0.5 ml vode pri sobni temperaturi. Ko po približno 5 minutah produkt kristalizira, mu dodamo 50 ml dietiletra (ali DIPE) ter intenzivno mešamo 1 uro, da se suspendira. Filtriramo nastalo oborino, ki jo sušimo v vakuumu pri 45 °C 2 uri. Dobitek 1,0 g.



13

Poskus 10

(Tvorba oblike III losartan kalija iz losartan kalija oblike I v vodi in z digeriranjem v diizopropil etru)

1.0 g kalijeve soli losartana (oblika I) topimo v 0.5 ml vode pri sobni temperaturi. Ko po približno 5 minutah produkt kristalizira, mu dodamo 50 ml diizopropiletra ter intenzivno mešamo 1 uro, da se suspendira. Filtriramo nastalo oborino, ki jo sušimo v vakuumu pri 45 °C 3 ure. Dobitek 1,0 g.

Poskus 11

(Tvorba oblike III losartan kalija iz losartan kalija oblike I v vodi in z digeriranjem v heptanu)

1 g kalijeve soli losartana (oblika I) topimo v 0.5 ml vode pri sobni temperaturi. Ko po približno 15 minutah produkt kristalizira, mu dodamo med intenzivnim mešanjem 10 ml n-heptana ter mešamo preko noči. Filtriramo nastalo oborino in sušimo. Dobitek 1 g.

Poskus 12

(Tvorba oblike III losartan kalija iz amornega losartan kalija v vlažnem heptanu)

1 g amorfne kalijeve soli losartana suspendiramo v 10 ml n-heptana . Med intenzivnim mešanjem dodamo k suspenziji pri sobni temperaturi 0.12 ml vode. Mešamo preko noči in odfiltriramo nastalo oborino. Sušimo. Dobitek 0.85 g.

Poskus 13

(Tvorba oblike III losartan kalija iz amornega losartan kalija v vlažnem dietiletru)

1 g amorfne soli losartana topimo v 0.5 ml vode pri sobni temperaturi. Ko po približno 15 minutah produkt kristalizira, mu dodamo 50 ml dietiletra ter intenzivno mešamo preko noči. Filtriramo nastalo oborino in sušimo. Dobitek 0.9 g.

Poskus 14

(Tvorba oblike III losartan kalija iz amornega losartan kalija v vlažnem etilacetatu)

1.0 g amorfne kalijeve soli losartana suspendiramo v 10 ml n-heptana. Med intenzivnim mešanjem dodamo k suspenziji pri sobni temperaturi 0.12 ml vode. Mešamo preko noči in odfiltriramo nastalo oborino, ki jo sušimo v vakuumu pri 45 °C 3 ure. Dobitek 0.87 g.

Poskus 15

(Tvorba oblike III losartan kalija iz amornega losartan kalija v vodi in z digeriranjem v dietiletru)

1.0 g amorfne soli losartana topimo v 0.5 ml vode pri sobni temperaturi. Ko po približno 15 minutah produkt kristalizira, mu dodamo 50 ml dietil etra ter intenzivno mešamo preko noči. Filtriramo nastalo oborino, ki jo sušimo v vakuumu pri 45 °C 3 ure. Dobitek 0.9 g.

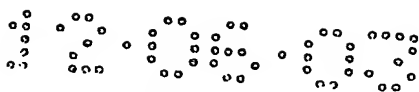
Poskus 16 (Tvorba oblike III losartan kalija iz amornega losartan kalija v vlažni atmosferi)

Amorfni losartan kalij (približno 0.5 g) smo enakomerno porazdelili po dnu petrijevke in jo odprto postavili v eksikator s kontrolirano relativno vlago (80 %, raztopina KBr). Vzorec se je po približno 45 – 60 min stopil (nastala je prozorna viskozna masa), nato pa kristaliziral (nastali so beli kristali).

Poskus 17

(Termogravimetrična analiza)

Obliki III losartan kalija smo izmerili vsebnost vode s termogravimetrično analizo. Po izračunu vsebuje trihidrat substance 10.5 % vode saj je sprememba mase zaradi ene vode 3.5 %. Iz TG meritev je razvidno, da voda izhaja v dveh korakih.



Meja med korakoma je med 50 °C in 60 °C, pri čemer v prvem koraku vzorec izgubi okoli 3 do 4 % mase, v drugem pa okoli 7 do 8 %, skupaj okoli 12 %.

Poskus 18

(DVS meritve)

Pri poskusu na DVS se je izhodnemu amorfneemu vzorcu masa povečala za 20 – 26 % pri 70 – 80 % relativni vlažnosti. Pri še večjem povečevanju relativne vlažnosti se je masa vzorca zmanjšala na pod približno 13 % vode, kar nakazuje kristalizacijo. Iz amorfne stanja se je izkristalizirala kristalna struktura, pri čemer se je izločila odvečna voda iz urejene strukture, kar opazimo kot nenaden padec mase. Pri ponovljenem krogu sorpcije/desorpcije vode vlaga v vzorcu ne narašča nad ravnotežno vlago v kristalu (absorbira manj vode kot prej amorfna oblika). Da gre za kristalno vezano vodo, potrjujejo tudi DVS meritve, iz katerih je razvidno, da ob sušenju kristalne substance vlaga ne izstopa. Le-ta izstopi relativno hitro šele na koncu, ko pade relativna vlažnost pod 20 %.

Ob sušenju na znižanem tlaku (pri približno 0.3 mbar) kristalno vezana voda izstopi in nastala substanca je zopet amorfna

Poskus 19

(DSC analiza amorfne kalijeve soli losartana)

Posneli smo DSC diagram amorfne kalijeve soli losartana. Do 110 °C je opaziti razvlečen endotermen vrh, ki pomeni izhajanje vode. Pri 128 – 129 °C je prevoj, ki pomeni steklasti prehod amorfne. Pri 201 – 220 °C je izrazit eksotermen vrh, ki je posledica urejanja strukture v kristalno rešetko (kristalizacija). Na DSC krivulji kasneje ni opaziti prehoda v drugo polimorfno obliko, kot je to opaziti pri segrevanju kristalne substance polim. oblike I, ki preide v obliko II pri 240 °C.. Kristali substance se pričnejo taliti pri 273 °C, taljenju sledi razpad, kar je enako kot pri kristalinični substanci.

Poskus 20**(DSC analiza oblike III kalijeve soli losartana)**

Posneli smo DSC diagram polimorfne oblike III kalijeve soli losartana.

Do 75 °C je opaziti razvlečen vrh, ki pomeni izhajanje prve vode, okoli 90 °C pa oster endotermen vrh, ki pomeni hkratno izhajanje drugih dveh vod ter porušitev urejene strukture v amorfno (amorfna oblika substance ima višjo stopnjo neurejenosti in s tem višjo entropijo kot kristalna oblika, zato je prehod kristala v amorf endotermen proces). Pri 190 – 200 °C amorfna substanca ponovno kristalizira.

Poskus 21**(Stabilnost)**

Amorfni losartan kalij je bistveno bolj higroskopen od kristalnega losartan kalija oblike III. Za vrednotenje oz. primerjavo stabilnosti so bili narejeni štirje poskusi. Primerjali smo amorfno substanco s polimorfno obliko III, obe izpostavljeni 4 dni v atmosferi zraka na pogojih:

Poskus 21 a: 60 °C, suha atmosfera

Poskus 21 b: 60 °C, vlaga

Poskus 21 c: 80 °C, suha atmosfera

Poskus 21 d: 80 °C, vlaga

Rezultati kažejo, da je polimorfna oblika III vsaj toliko stabilna kot amorfna (na temperaturo in vlago). Amorfen losartan kalij se je na vlagi zliil v steklasto maso in nato so nastajali beli kristali oblike III, v vzporednem poskusu pa je polimorfna oblika III losartan kalija na vlagi ostala v praškasti obliki.

Po vsebnostih razkrojnih produktov sta bili obe obliki substance zelo podobni.

Poskus 22**(Odvisnost XRD od temperature)**

Vzorec polimorfne oblike III losartan kalija smo posneli pri temperaturah: 25, 40, 60, 90, 120 in 240 st. C. Na posamezno temperaturo smo segrevali s hitrostjo 10

Patentni zahtevki

1. Polimorfna oblika III kalijeve losartana označena s tem, da obstaja v kristalni obliki z vezano vodo in ima njen rentgenski praškovni difraktogram uklone pri 2θ okoli 13.0, 17.2, 19.7, 20.9, 21.0, 23.2, 23.6, 24.5, 25.0, 26.6, 17.3, 28.2, 29.0, 31.5°.
2. Polimorfna oblika III kalijeve soli losartana po zahtevku 1, označena s tem, da obstaja v kristalni obliki z vezano vodo, pri čemer je količina vode med okoli 7 in okoli 12 utežnih odstotkov.
3. Polimorfna oblika III kalijeve soli 2-n-butil-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)][1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazola, označena s tem, da je kristalizirana v obliki dihidrata.
4. Polimorfna oblika III kalijeve soli losartana po zahtevku 2, označena s tem, da pri termogravimetrični analizi izgubi okoli 4% mase pri segrevanju do okoli 55 °C, nato izgubi okoli 8 % mase pri segrevanju nad okoli 55 °C.
5. Postopek priprave polimorfne oblike III kalijeve soli losartana označen s pretvorbo kalijeve soli losartana ob prisotnosti vode.
6. Postopek po zahtevku 5 označen s tem, da je voda prisotna kot vlaga.
7. Postopek po zahtevku 6 označen s tem, da se pripravi polimorfna oblike III kalijeve soli losartana iz amorfnega losartan kalija, tako da se amorfen losartan kalij izpostavi atmosferi z od okoli 20% do okoli 80 % relativne vlage.
8. Postopek po zahtevku 5 označen s tem, da je voda prisotna v zmesi topil, ki se ne mešajo z vodo ali se slabo mešajo z vodo.
9. Postopek po zahtevku 5 označen s tem, da vsebuje naslednja koraka:
 - a) da se pripravi koncentrirana vodna raztopina kalijeve soli losartana v od okoli 0.4 do okoli 1.2 kratni količini vode glede na maso losartana,
 - b) da se iz dobljene zmesi topil izolira polimorfna oblika III s sušenjem in mletjem.

10. Postopek po zahtevku 8 označen s tem, da vsebuje naslednje korake:
 - a) da se pripravi koncentrirana vodna raztopina kalijeve soli losartana v od okoli 0.4 do okoli 1.2 kratni količino vode glede na maso losartana,
 - b) da se dobljeni vodni raztopini doda topilo, ki se ne meša z vodo ali se slabo meša z vodo,
 - c) da se iz dobljene zmesi topil izolira polimorfna oblika III.
11. Postopek po zahtevku 8 označen s tem, da vsebuje naslednja koraka:
 - a) da se suspendira kalijeva sol losartana v zmesi topila, ki se ne meša z vodo in vode v molarnem razmerju od okoli 3 do okoli 30 glede na losartan,
 - b) da se iz dobljene zmesi topil izolira polimorfna oblika III.
12. Postopek po zahtevku 10 ali 11 označen s tem, da je topilo izbrano izmed naslednjih topil: dietileter, diisopropileter, butilmetileter, pentan, heksan, heptan, cikloheksan, metilcikloheksan, benzen, toluen, ksilen, etil acetat, propil acetat, butil acetat.
13. Polimorfna oblika III kalijeve losartana označena s tem, da je pripravljena po postopku po katerem koli od zahtevkov 5 do 12.
14. Amorfn oblika kalijeve soli losartana pripravljena z odparevanjem alkoholne raztopine losartan kalija.
15. Farmacevtski pripravek, ki vsebuje kot aktivno učinkovino polimorfno obliko III kalijeve soli 2-n-butyl-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[[[2'-(1H-tetrazol-5-il)][1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazola.
16. Uporaba polimorfne oblika III kalijeve soli losartana za pripravo zdravila.
17. Uporaba polimorfne oblika III kalijeve soli losartana po zahtevku 16 za pripravo zdravila za zdravljenje hipertenzije.
18. Postopek priprave amorfn soli losartan kalija označen s tem, da se polimorfni obliki III kalijeve soli losartana s sušenjem odvzame vezana voda.

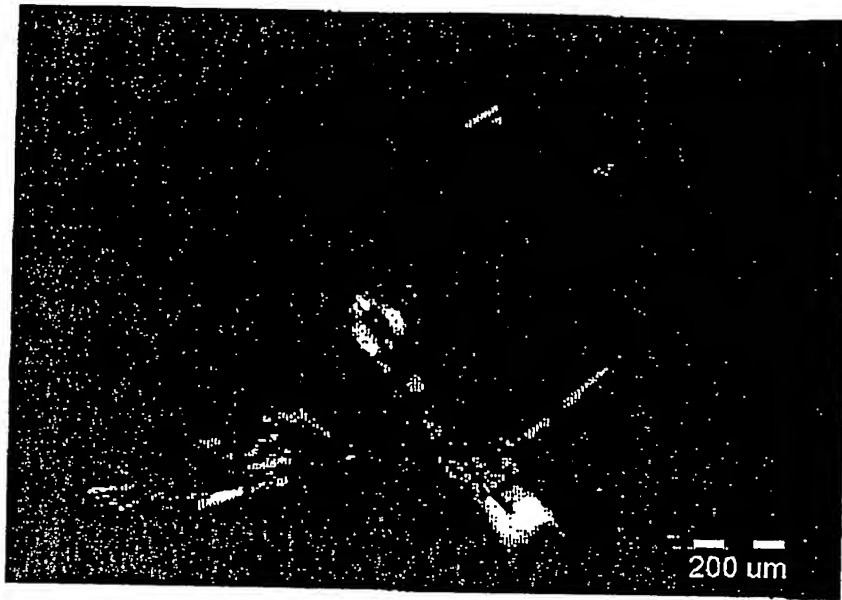
Proces priprave tetrazolskih derivatov v novi kristalni obliki

Izvleček

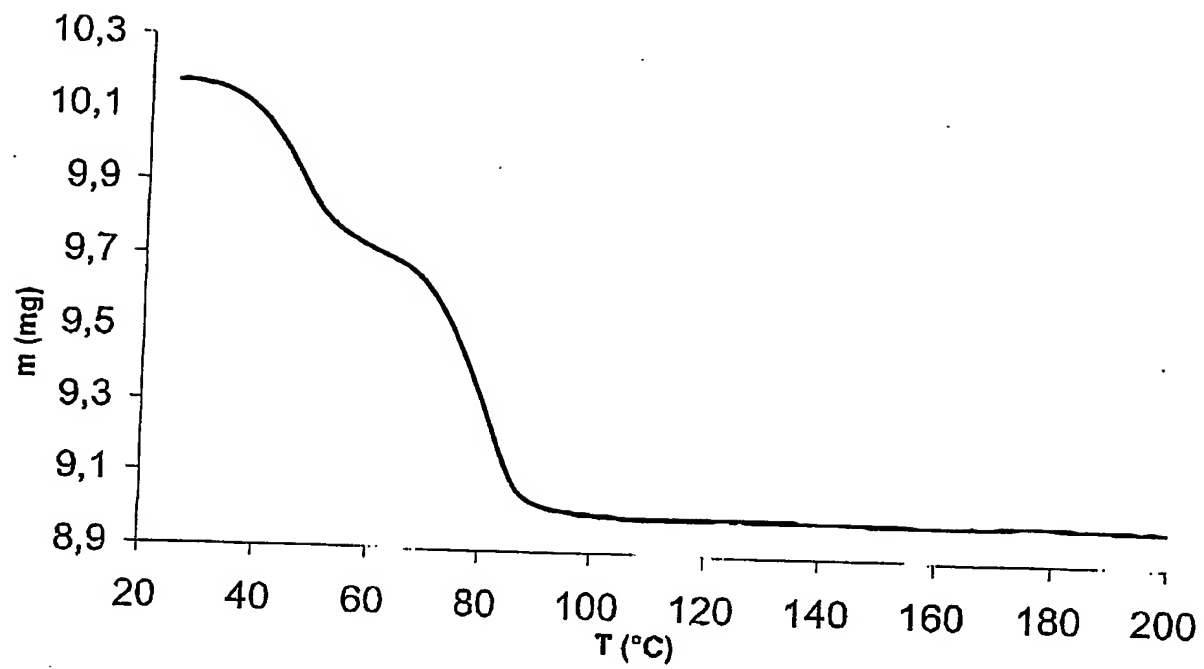
Nova kristalna oblika farmacevtsko uporabne kristalinične soli 2-*n*-butil-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazola z vezano vodo je bila pripravljena z preureditvijo drugih polimorfnih oblik v kristalno strukturo z vezano vodo.

Novo polimorfno obliko se da pripraviti iz amorfne strukture v vlažni atmosferi ali iz koncentrirane vodne suspenzije ali raztopine oziroma suspenzije v zmesi vode in topil, ki se z vodo ne mešajo ali slabo mešajo.

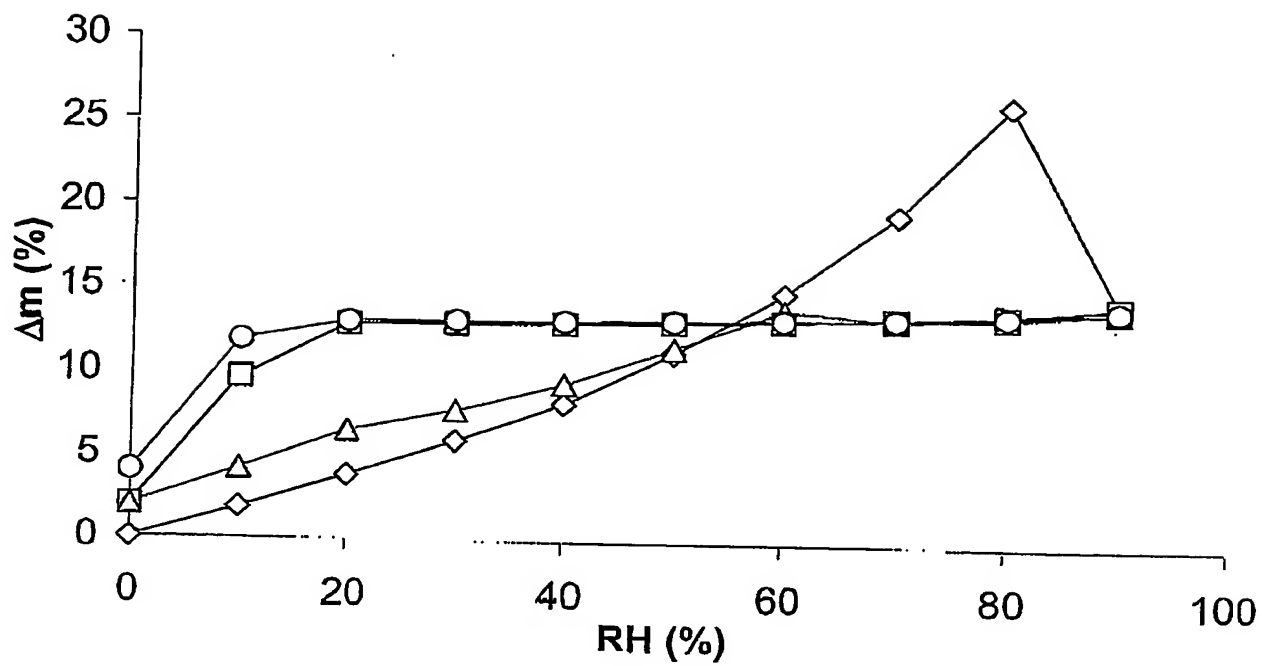
1/8



Slika 1



Slika 2



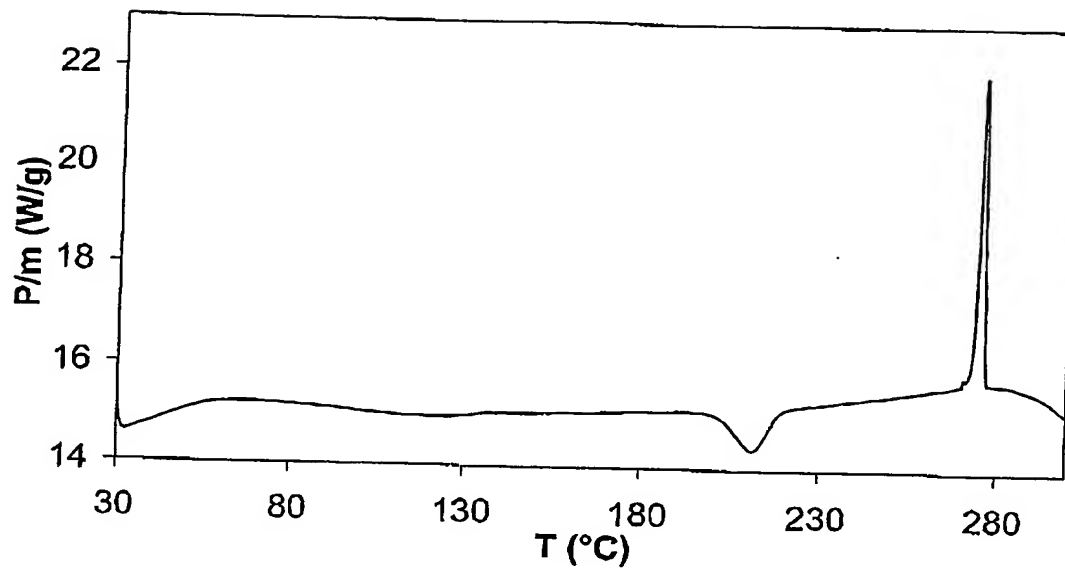
Slika 3



Slika 4

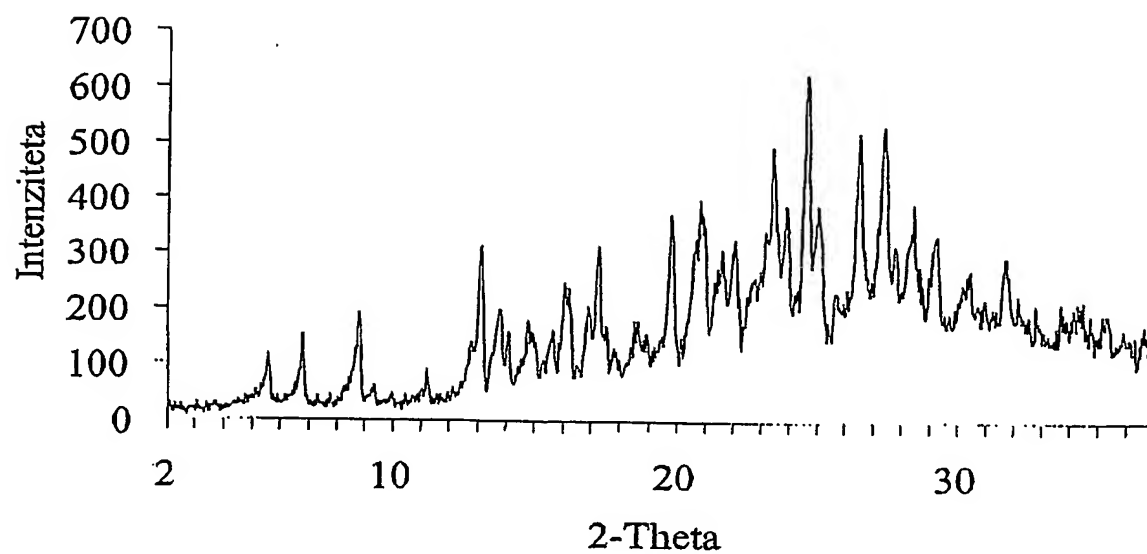
120903

5/8



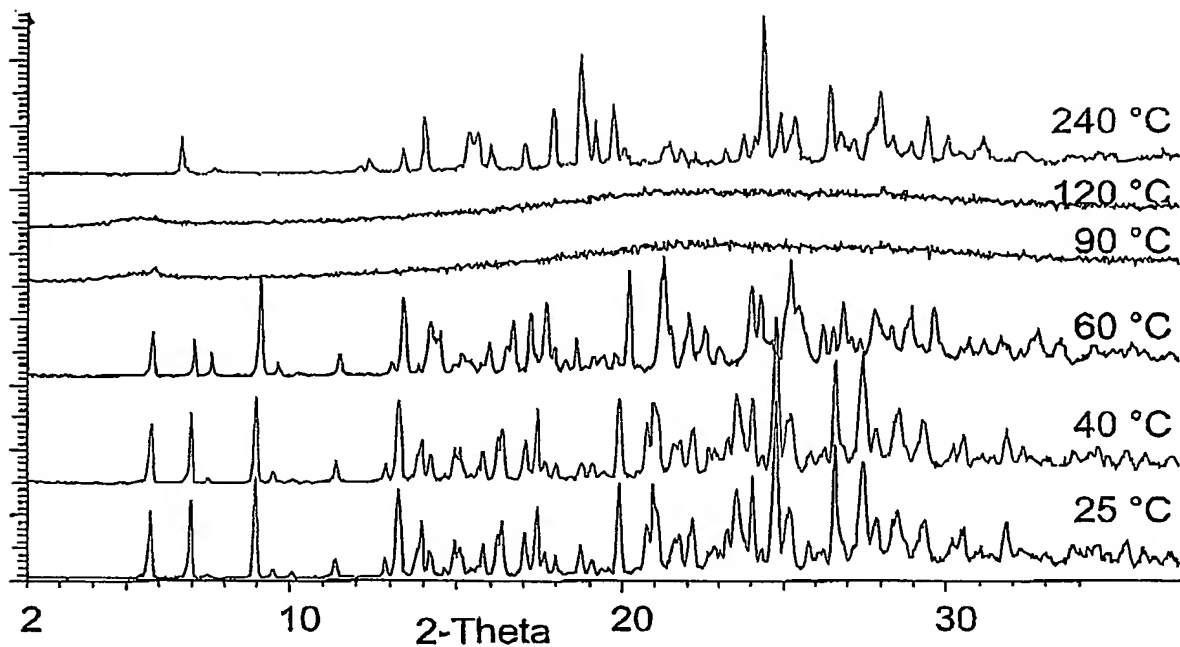
Slika 5

6/8



Slika 6

Intenziteta



Slika 8

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.